

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-217678

(43) 公開日 平成8年(1996)8月27日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/57	A B E		A 6 1 K 31/57	A B E
9/107	A B F		9/107	A B F E
	A B L			A B L U
47/18			47/18	K
47/32			47/32	H
審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全 9 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号	特願平6-322513	(71) 出願人	000199175 千寿製薬株式会社 大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号
(22) 出願日	平成6年(1994)12月26日	(71) 出願人	000005968 三菱化学株式会社 東京都千代田区丸の内二丁目5番2号
(31) 優先権主張番号	特願平5-332099	(72) 発明者	木村 素子 広島県広島市中区光南1丁目7番8-1301号
(32) 優先日	平5(1993)12月27日	(72) 発明者	森田 泰司 大阪府豊中市西緑丘2丁目6番10-305号
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 高島 一
(31) 優先権主張番号	特願平6-307833		
(32) 優先日	平6(1994)12月12日		
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 ジフルブレドナート含有点眼用懸濁液剤

(57) 【要約】

【構成】 ジフルブレドナートを有効成分として含有することを特徴とする点眼用懸濁液剤。

【効果】 本発明の点眼用懸濁液剤は、眼局所投与により優れた抗炎症作用および抗アレルギー作用を示す。アレルギー性結膜炎、春季カタル、眼瞼縁炎、カタル性結膜炎、ぶどう膜炎等の炎症性およびアレルギー性の眼疾患の治療または予防に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ジフルブレドナートを有効成分として含有することを特徴とする点眼用懸濁液剤。

【請求項 2】 水溶性高分子を配合することを特徴とする請求項 1 記載の懸濁液剤。

【請求項 3】 水溶性高分子がヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルアルコールから選ばれる少なくとも 1 種の化合物である請求項 2 記載の懸濁液剤。

【請求項 4】 水溶性高分子の含有割合が 0.05 ~ 0.2 w/v % である請求項 2 記載の懸濁液剤。 10

【請求項 5】 保存剤を配合することを特徴とする請求項 1 記載の懸濁液剤。

【請求項 6】 保存剤が第 4 級アンモニウム塩および陽イオン性化合物から選ばれる少なくとも 1 種の化合物である請求項 5 記載の懸濁液剤。

【請求項 7】 第 4 級アンモニウム塩が塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウムから選ばれる少なくとも 1 種の化合物である請求項 6 記載の懸濁液剤。

【請求項 8】 陽イオン性化合物がグルコン酸クロルヘキシジンである請求項 6 記載の懸濁液剤。 20

【請求項 9】 保存剤の含有割合が 0.005 ~ 0.01 w/v % である請求項 5 記載の懸濁液剤。

【請求項 10】 等張化剤を配合することを特徴とする請求項 1 記載の懸濁液剤。

【請求項 11】 等張化剤が塩化ナトリウムである請求項 10 記載の懸濁液剤。

【請求項 12】 緩衝剤を配合することを特徴とする請求項 1 記載の懸濁液剤。

【請求項 13】 緩衝剤が酢酸塩および ϵ -アミノカプロン酸から選ばれる少なくとも 1 種の化合物である請求項 12 記載の懸濁液剤。 30

【請求項 14】 酢酸塩が酢酸ナトリウムである請求項 13 記載の懸濁液剤。

【請求項 15】 水溶性高分子、保存剤、等張化剤および緩衝剤を配合することを特徴とする請求項 1 記載の懸濁液剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、抗炎症ステロイドであるジフルブレドナートを有効成分として含有する点眼用懸濁液剤に関する。 40

【0002】

【従来技術】 ジフルブレドナート (6 α , 9 α -ジフルオロブレドニゾロン 17-ブチレート 21-アセテート) は局所適用を目的として開発された抗炎症ステロイドであり、経皮投与により優れた抗炎症作用を示すことが知られている (特公昭 45-28370 号公報、特公昭 45-28371 号公報)。ジフルブレドナートはまた経皮投与および皮下投与において、優れた抗炎症作 50

用および抗アレルギー作用を示すことが報告されている (応用薬理 (1985) 29 (3) 343-353、応用薬理 (1985) 29 (3) 355-362)。これらの薬理作用に基づきジフルブレドナートは現在、主に湿疹、皮膚炎等の皮膚疾患の治療薬として軟膏またはクリームの形態で使用されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 ジフルブレドナートが優れた抗炎症作用および抗アレルギー作用を示すことから、眼に局所適用することにより種々の眼疾患の治療にも有用であると期待される。前述の特公昭 45-28370 号公報には、ジフルブレドナートの眼局所用剤として眼軟膏の処方記載されている (同公報、第 12 欄第 32 ~ 43 行、実施例 10)。眼局所用剤の場合、眼軟膏は投与方法が煩わしいので、使用が簡便な点眼液の形態に調製することが望まれる。しかしながら、ジフルブレドナートは水に対する溶解度が低いため、治療有効濃度を含有する安定な点眼液を調製することは困難であり、点眼投与可能なジフルブレドナートの医薬製剤はこれまで提供されていない。

【0004】 本発明の目的は、点眼投与可能なジフルブレドナートの新規医薬製剤を提供することにある。また本発明の他の目的は、製剤安定性に優れたジフルブレドナートの眼局所用剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記課題を解決すべく種々研究を重ねた結果、ジフルブレドナートを懸濁液剤の形態に調製することにより、点眼投与可能な新規医薬製剤が提供されることを見出した。

【0006】 さらに本発明者らの研究によれば、ジフルブレドナートを懸濁液とし、長時間放置すると、懸濁粒子が相互に付着し、部分的凝集による二次粒子が形成されたり、容器底部に硬い沈積層が形成 (ケーキング) されたり、pH 低下が認められることがあることが判明した。これら二次粒子の形成やケーキングは、点眼剤としての粒子径や再分散性の点で問題となる (以下、二次粒子やケーキングは一体として凝集体ということもある)。本発明者らはジフルブレドナート懸濁液剤の安定性について検討した結果、好適な成分を配合することにより、凝集による二次粒子の形成やケーキングおよび pH 低下が抑制され再分散性および安定性に優れた懸濁液剤が提供されることを見出した。

【0007】 本発明はジフルブレドナートを有効成分として含有することを特徴とする点眼用懸濁液剤に関する。

【0008】 本発明において、懸濁液剤とは液中に固体粒子が均質に分散した液剤を意味する。本発明の点眼用懸濁液剤は、医薬上許容される溶媒とジフルブレドナートを含有し、当該溶媒中にジフルブレドナートが分散されている。医薬上許容される溶媒としては、水、生理食

3

塩液、緩衝液等の水性溶媒が例示される。ジフルブレドナートの含有量は適応疾患等により適宜変更することができるが、懸濁液剤全体に対して通常 0.005~0.5w/v%、好ましくは 0.01~0.2w/v% である。

【0009】本発明の懸濁液剤には、分散安定性を高めるために水溶性高分子を配合することができる。水溶性高分子の例としては、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、カルボキシビニルポリマー等が挙げられる。或いは医薬製剤の分野で公知のその他の懸濁化剤を配合してもよい。

【0010】上記の水溶性高分子の中で、凝集体の形成および pH 低下が抑制され再分散性および安定性に優れた懸濁液剤が得られることから、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルアルコールが好適に使用される。ヒドロキシプロピルメチルセルロースのメトキシ基およびヒドロキシプロポキシ基の含量はそれぞれ好ましくは 19~30%、4~12%、より好ましくは 28~30%、7~12% である。ポリビニルアルコールの平均分子量は、好ましくは約 30,000~約 150,000、より好ましくは約 100,000~約 120,000 である。水溶性高分子の含有割合は、懸濁液剤中に通常 0.01~2.0w/v%、好ましくは 0.02~1.0w/v%、より好ましくは 0.05~0.2w/v% である。

【0011】本発明の懸濁液剤には、かび、細菌等の微生物による汚染を防止するために保存剤を配合することができる。本発明で使用できる保存剤は、抗菌作用および抗かび作用を有する無毒性、無刺激性の眼に適用可能な保存剤である。保存剤の例としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム等の第 4 級アンモニウム塩；グルコン酸クロルヘキシジン等の陽イオン性化合物；パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピル、パラオキシ安息香酸ブチル等のパラオキシ安息香酸エステル；クロロブタノール、ベンジルアルコール等のアルコール化合物；デヒドロ酢酸ナトリウム；チメロサル等が挙げられる。上記の保存剤の中で、凝集体の形成および pH 低下が抑制され再分散性および安定性に優れた懸濁液剤が得られることから、第 4 級アンモニウム塩および陽イオン性化合物が好ましい。第 4 級アンモニウム塩としては、塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウムが特に好ましく、陽イオン性化合物としてはグルコン酸クロルヘキシジンが特に好ましい。保存剤の含有割合は、懸濁液剤中に通常 0.001~0.3w/v%、好ましくは 0.002~0.05w/v%、より好ましくは 0.005

4

~0.01w/v% である。

【0012】本発明の懸濁液剤には、涙液と等張にするために等張化剤を配合することができる。等張化剤としては、点眼液剤で通常使用される塩化ナトリウム、グリセリン、ブドウ糖、マンニトール、ソルビトール等が使用できる。特に塩化ナトリウムが、調製時の分散性が良好で、凝集体の形成が抑制され再分散性に優れた懸濁液剤が得られることから好適である。等張化剤は、懸濁液剤の浸透圧が涙液と等張になる量で添加すればよい。

【0013】本発明の懸濁液剤には緩衝剤を配合することができる。本発明においては、pH 3~8 に緩衝能を有する緩衝剤を使用することができる。緩衝剤の例としては、酢酸ナトリウム等の酢酸塩、リン酸二水素一ナトリウム、リン酸一水素二ナトリウム、リン酸二水素一カリウム、リン酸一水素二カリウム等のリン酸塩、ε-アミノカプロン酸、グルタミン酸ナトリウム等のアミノ酸塩、ホウ酸およびその塩等が挙げられる。上記の緩衝剤の中で、凝集体の形成および pH 低下が抑制され再分散性および安定性に優れた懸濁液剤が得られることから、酢酸塩および ε-アミノカプロン酸が好ましい。酢酸塩としては酢酸ナトリウムが特に好ましい。緩衝剤の含有割合は、懸濁液剤中に通常 0.01~2.0w/v%、好ましくは 0.05~0.5w/v% である。

【0014】本発明の懸濁液剤には、分散安定性を高める目的で、さらに非イオン性界面活性剤を配合することができる。本発明で使用される非イオン性界面活性剤は、無毒性、無刺激性で眼に適用可能な非イオン性界面活性剤である。本発明で使用される非イオン性界面活性剤の例としては、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート等）、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ソルビタン脂肪酸エステル（例えばソルビタンモノオレエート、ソルビタンモノラウレート、ソルビタンモノパルミテート、ソルビタンモノステアレート等）、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンポリマー、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（例えばポリオキシエチレンラウリルエーテル等）、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル（例えばポリオキシエチレンモノステアレート等）等が挙げられる。

【0015】上記の非イオン性界面活性剤の中で、調製時の分散性が良好で、凝集体の形成および pH 低下が抑制され再分散性および安定性に優れた懸濁液剤が得られることから、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルおよびポリオキシエチレン硬化ヒマシ油が好適に使用される。ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルは脂肪酸部分の炭素数が 16~18 のものが好ましく、そのエチレンオキッド平均付加モル数は約 20 が好ましい。特に好適な例としてはポリソルベート 80（ポ

リオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート、エチレンオキシド平均付加モル数(約20モル)が挙げられる。ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油のエチレンオキシド平均付加モル数は約40~約60が好ましい。非イオン性界面活性剤の含有割合は、懸濁液剤中に通常0.005~1.0w/v%、好ましくは0.01~0.5w/v%、より好ましくは0.05~0.2w/v%である。

【0016】本発明の点眼用懸濁液剤には、他に安定化剤、抗酸化剤、キレート剤、pH調整剤、増粘剤、吸収促進剤等の各種添加剤を配合することができる。抗酸化剤の例としては、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、トコフェロール、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム等が挙げられる。キレート剤の例としては、エデト酸ナトリウム(エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム)、クエン酸ナトリウム等が挙げられる。pH調整剤の例としては、塩酸、クエン酸、リン酸、酢酸、酒石酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等が挙げられる。

【0017】本発明の懸濁液剤は、通常、ジフルブレドナートが安定で眼粘膜に対する刺激の少ないpH4~6の範囲に調整する。懸濁液剤中のジフルブレドナート懸濁粒子の平均粒子径は、0.01~75 μ m、好ましくは0.1~20 μ mである。当該粒子径のジフルブレド*

ジフルブレドナート
酢酸ナトリウム
塩化ナトリウム
塩化ベンザルコニウム
ヒドロキシプロピルメチルセルロース
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60
塩酸
蒸留水

約70℃に加温した蒸留水約80mlに上記処方法のヒドロキシプロピルメチルセルロースを溶解し、約40℃まで冷却後、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60(エチレンオキシド平均付加モル数(約60モル))を溶解する。室温まで冷却後、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム ※

ジフルブレドナート
酢酸ナトリウム
塩化ナトリウム
塩化ベンザルコニウム
ヒドロキシプロピルメチルセルロース
塩酸
蒸留水

約70℃に加温した蒸留水約80mlに上記処方法のヒドロキシプロピルメチルセルロースを溶解し、室温まで冷却後、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化ベンザルコニウムを溶解する。塩酸でpHを5.0に調整後、ジ

ジフルブレドナート
ε-アミノカプロン酸

*ナートを使用することにより、眼粘膜に対する刺激性が少なく分散性のよい懸濁液剤を調製することができる。

【0018】本発明の点眼用懸濁液剤は、公知の懸濁液剤の製法に従い、医薬上許容される溶媒にジフルブレドナートを懸濁させることによって調製される。例えば、医薬上許容される水性溶媒に、必要に応じて水溶性高分子、緩衝剤、等張化剤、保存剤等の添加剤を添加し、pH調整剤(塩酸、水酸化ナトリウム水溶液等)を用いてpH4~6に調整後、ジフルブレドナートを懸濁させて均質な懸濁液剤を得る。均一に懸濁させるために、ミキサー、ホモジナイザー、超音波処理等の公知の均質化手段を使用することができる。点眼用懸濁液剤の調製は無菌操作法により行うか或いは適当な段階で滅菌処理を行う。

【0019】本発明の点眼用懸濁液剤は保存剤無添加型(使い捨て型)の点眼用製剤としても提供できる。使い捨て型の点眼用製剤は1回用量が用時開封可能な密封容器に収容されている。本発明の点眼用懸濁液剤が使い捨て型の場合は、微生物による汚染の恐れがないため前記のような保存剤を含有していなくてもよい。

【0020】

【実施例】以下に実施例及び試験例を挙げて、本発明をさらに詳細に説明する。

実施例1

0.1g
0.1g
0.8g
0.005g
0.2g
0.05g
適量
全量100ml

※ム、塩化ベンザルコニウムを溶解し、塩酸でpHを5.0に調整後、ジフルブレドナートを懸濁させ、蒸留水を加えて100mlとする。

【0021】実施例2

0.05g
0.1g
0.8g
0.005g
0.2g
適量
全量100ml

フルブレドナートを懸濁させ、蒸留水を加えて100mlとする。

【0022】実施例3

0.05g
0.1g

7

8

塩化ナトリウム	0.8 g
塩化ベンザルコニウム	0.005 g
グルコン酸クロルヘキシジン	0.002 g
ポリビニルアルコール	0.2 g
ポリソルベート80	0.05 g
塩酸	適量
蒸留水	全量100 ml

約40℃に加温した蒸留水約80 mlに上記処方のポリビニルアルコールを溶解し、室温まで冷却後、ε-アミノカプロン酸、塩化ナトリウム、塩化ベンザルコニウム、グルコン酸クロルヘキシジンおよびポリソルベート*

*80を溶解する。塩酸でpHを6.0に調整後、ジフルブレドナートを懸濁させ、蒸留水を加えて100 mlとする。

【0023】実施例4

ジフルブレドナート	0.05 g
リン酸二水素一ナトリウム	0.1 g
塩化ナトリウム	0.8 g
塩化ベンゼトニウム	0.005 g
ポリビニルアルコール	0.2 g
水酸化ナトリウム	適量
蒸留水	全量100 ml

約40℃に加温した蒸留水約80 mlに上記処方のポリビニルアルコールを溶解し、室温まで冷却後、リン酸二水素一ナトリウム、塩化ナトリウムおよび塩化ベンゼトニウムを溶解する。水酸化ナトリウムでpHを6.0に調整後、ジフルブレドナートを懸濁させ、蒸留水を加えて100 mlとする。

※および振盪による再分散後の性状およびpHの測定を行った。振盪による再分散後の性状は、懸濁液中の懸濁粒子の粒子径が75 μm以下のものを「微粒子」、懸濁粒子が凝集し、粒子径が肥大し、微粒子に再分散不可能なものを「凝集塊」、懸濁粒子が凝集し、容器底に硬い沈積層を形成し、再分散不可能なものを「ケーキング」と判定した。

【0024】試験例1（安定性試験）

表1に記載の処方の点眼用懸濁液剤を調製し、5 mlガラスアンプルに充填後、60℃で保存し、外観の観察お※

【0025】

【表1】

処方			A	B	C	D	E	F	G	H
ジフルブレドナート			0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
懸濁化剤	水溶性高分子	HPMC PVA(BG40)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	界面活性剤	ポリソルベート80 HC060							0.1	0.05
緩衝剤	酢酸ナトリウム ε-アミノカプロン酸		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
保存剤	塩化ベンザルコニウム グルコン酸クロルヘキシジン					0.005	0.005	0.005 0.002	0.005	0.005
等張化剤	塩化ナトリウム						0.8	0.8	0.8	0.8

HPMC: ヒドロキシプロピルメチルセルロース

(単位はw/v%)

PVA(BG40): ポリビニルアルコール

HC060: ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60

【0026】結果を表2に示す。全ての処方において懸濁粒子の沈降が認められたが、振盪により微粒子に再分

散した。懸濁化剤としてヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を、緩衝剤として酢酸ナトリウムまたは ϵ -アミノカブロン酸を使用した場合、凝集塊の形成またはケーキングが認められず、pH の変動もなく、安定な懸濁液剤が得られた (処方 A、B)。また懸濁化剤としてポリビニルアルコール (PVA) を使用した処方においても安定な懸濁液剤が得られた (処方 C)。保存剤としては塩化ベンザルコニウムおよび／またはグルコン酸クロルヘキシジン配合した処方において、凝集塊またはケーキングが生じず、pH の変動が殆ど認められない安定な懸濁液剤が得られた (処方 D、E、F)。等張化剤としては塩化ナトリウムを使用した場合、再分散性、安定性のよい懸濁液剤が得られた (処方 E、F)。さらに、懸濁化剤としてポリソルベート 80、ポ*

*リオキシエチレン硬化ヒマシ油 60 (HCO 60) のような非イオン性界面活性剤を配合した処方においても安定な懸濁液剤が得られた (処方 G、H)。

【0027】以上の結果から、懸濁化剤として HPMC および緩衝剤として酢酸ナトリウムまたは ϵ -アミノカブロン酸の組合せが安定であり、本安定性は、保存剤として塩化ベンザルコニウムおよびグルコン酸クロルヘキシジン、さらに等張化剤として塩化ナトリウムを配合することによっても維持できることが判明した。さらに、界面活性剤を配合することによっても、本安定性は変動しなかった。

【0028】

【表 2】

	再分散後の性状				pH			
	調製時	1 週間	2 週間	4 週間	調製時	1 週間	2 週間	4 週間
A	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	5.00			5.00
B	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	5.00			5.00
C	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	4.97	5.04	5.07	5.01
D	微粒子			微粒子	4.98			4.88
E	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	4.62	4.59	4.62	4.63
F	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	4.93	5.00	5.01	5.04
G	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	5.08	4.87	4.70	4.69
H	微粒子	微粒子	微粒子	微粒子	4.91	4.89	4.75	4.70

【0029】試験例 2 (急性ぶどう膜炎に対する抗炎症作用)

(1) 試験動物

体重約 2.2 kg の日本白色種雄性家兎を用いた。

(2) 被検薬物

※

※下記の処方の基剤にジフルブレドナートを 0.02% または 0.1% 濃度で懸濁させた。pH は 7.0 に調整した。対照薬剤として 0.1% ベタメタゾン [リンデロン (登録商標) 液、塩野義製薬] を用いた。コントロール群には生理食塩液を投与した。

処方 リン酸二水素一ナトリウム・二水和物

0.1 w/v %

ポリソルベート 80

0.1 w/v %

塩化ナトリウム

0.852 w/v %

水酸化ナトリウム

適量

蒸留水

全量 100 w/v %

(3) 試験方法

家兎に生理食塩液に溶解した E.coli エンドトキシンを $10 \mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ 静脈内投与し起炎させた。被検薬物はエンドトキシン注入 1 時間前に $50 \mu\text{l}$ を片眼に点眼した。炎症惹起の 4 時間後に点眼眼の房水を採取し、Lowry 法 [J. Bio. Chem., 193-265 (1951)] により房水蛋白濃度を測定した。

(4) 結果

エンドトキシン静注 4 時間後の房水蛋白濃度を図 1 に示した [各値は平均 \pm S. E. を示す ($n=6\sim7$)。コントロールとの有意差 *; $p<0.01$]。コントロール群の房水蛋白濃度が $23.8 \text{ mg}/\text{ml}$ と増加したのに対し、ジフルブレドナート懸濁液剤投与群では、0.02% 濃度で $3.6 \text{ mg}/\text{ml}$ 、0.1% 濃度では $1.4 \text{ mg}/\text{ml}$ と強い炎症抑制効果が認められ、抑制率はそれぞれ 84.7% および 94.0% であった。一方、

0.1%ベタメタゾン投与群の房水蛋白濃度は、9.1 mg/mlで抑制率は61.9%であった。以上の結果より、本発明の点眼用懸濁液剤はベタメタゾン点眼液より強い抗炎症作用を有し、ぶどう膜炎に対し有効な薬剤であることが示される。

【0030】試験例3（ラットI型アレルギー反応に対する抑制効果）

(1) 試験動物

日本クレア社より購入した体重約100gのWistar系雄性ラット40匹を用いた。

(2) 被検薬物

試験例2と同様にして0.01%、0.03%および0.1%濃度のジフルブレドナート懸濁液剤を調製した。対照薬剤として0.1%ベタメタゾン〔リンデロン（登録商標）液、塩野義製薬〕を用いた。コントロール群には生理食塩水を投与した。

10

* (3) 試験方法

ラット抗卵アルブミン血清を生理食塩液で64倍希釈し、ラットの片眼上眼瞼結膜下に50μl注射することにより、受動感作を行った。結膜下注射の72時間後に1%卵アルブミン、1%エバンスブルーの等量混合液1mlを尾静脈に注入し、結膜局所に受動アナフィラキシー反応を惹起させた。その30分後に眼瞼を切出し、色素をホルムアミド3mlで一夜抽出し、625nmにおける吸光度を測定した。被検薬物は、受動アナフィラキシー反応の3および4時間前に5μlずつを感作眼に点眼投与した。

(4) 結果

ラット受動アナフィラキシー反応による色素漏出量および抑制率を表3に示した。

【0031】

【表3】

被検薬物	濃度 (%)	n	色素漏出量 (μg/site)	抑制率 (%)
生理食塩液	—	8	24.57±7.00	—
ジフルブレドナート	0.01	8	11.01±2.61	55.2
	0.03	8	7.42±0.53*	69.8
	0.1	8	5.75±0.50*	76.6
ベタメタゾン	0.1	8	21.08±6.11	14.2

各値は平均±S.E.を示す。

コントロールとの有意差 *: p < 0.05 (Dunnett's test)

【0032】コントロール群の色素漏出量が24.57 μg/siteであったのに対し、ジフルブレドナート懸濁液剤点眼群では0.01%濃度で55.2%、0.03%濃度で69.8%、および0.1%濃度で76.6%の抑制率を示し、有意な抑制効果が認められた。一方、0.1%ベタメタゾン投与群では14.2%の抑制率を示し、有意な抑制効果は認められなかった。以上の結果より、本発明の点眼用懸濁液剤はI型アレルギー反応に対し有効な薬剤であることが示される。

【0033】試験例4（外眼部炎症に対する抗炎症作用）

(1) 試験動物

日本クレア社より購入した体重約120gのWistar系雄性ラットを用いた。

(2) 被検薬物

下記の処方の基剤にジフルブレドナートを0.01%、0.03%および0.1%濃度で懸濁させた。pHは5.0に調整した。対照薬剤として0.1%ベタメタゾン〔リンデロン（登録商標）液、塩野義製薬〕を用い

た。コントロール群には生理食塩水を投与した。

処方 リン酸二水素ナトリウム・二水和物

0.1w/v%

ヒドロキシプロピルメチルセルロース

0.2w/v%

塩化ナトリウム

0.9w/v%

蒸留水

全量100w/v%

(3) 試験方法

ラットの片眼にカルビトールに溶解した30%クロトンオイル(croton oil)5μlを60分間隔で3回点眼することにより、眼瞼結膜浮腫を作製した。最終点眼の120分後に眼瞼結膜の浮腫部域を切り取り、重量を測定した。各被検薬物は初回クロトンオイル点眼の30分前に5μlずつ炎症惹起した眼に点眼した。

(4) 結果

結果を表4及び図2に示した〔図2の各値は平均を示す(n=10)。コントロールとの有意差 *: p < 0.01〕。

【0034】

【表4】

被検薬物	濃度 (%)	投与量 (μ g)	n	浮腫重量 (mg)	抑制率 (%)
生理食塩液	—		10	21.1 \pm 1.4	—
ジフルプレドナート	0.01	1	10	15.0 \pm 0.8*	28.9
	0.03	3	10	13.7 \pm 0.9*	35.1
	0.1	10	10	12.2 \pm 0.7*	42.2
ベタメタゾン	0.1	10	10	13.3 \pm 0.9*	37.0

各値は平均 \pm S.E.を示す。

コントロールとの有意差 *; $p < 0.01$ (Dunnett's test)

【0035】コントロール群の浮腫重量が21.1mgであったのに対し、ジフルプレドナート懸濁液剤点眼群では用量に依存した有意な抑制効果を示した。0.01%、0.03%および0.1%濃度の抑制率はそれぞれ28.9%、35.1%および42.2%であった。0.1%ベタメタゾン投与群における抑制率は37.0%であった。以上の結果から、ラットクロトンオイル結膜浮腫に対し本発明の点眼用懸濁液剤は濃度に依存した抑制効果を示し、外眼部炎症に対し有効な薬剤であることが示される。

【0036】

【発明の効果】本発明の点眼用懸濁液剤は、眼局所投与により優れた抗炎症作用および抗アレルギー作用を示す。アレルギー性結膜炎、春季カタル、眼瞼縁炎、カタル性結膜炎、ぶどう膜炎等の炎症性およびアレルギー性の眼疾患の治療または予防に有用である。

【0037】本発明の懸濁液剤は点眼投与可能であるため、従来のジフルプレドナート含有眼軟膏に比べて眼局

所投与が容易であるという利点を有する。また本発明の点眼用懸濁液剤は、従来のベタメタゾン点眼液と比較して低用量のジフルプレドナートの投与で同等もしくはそれ以上の薬理効果が得られるため、投与量、投与回数を減ずることが可能となる。

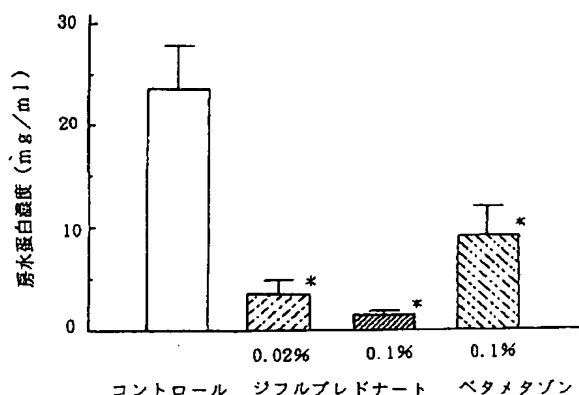
【0038】さらに本発明によれば、好適な成分を配合することにより、分散安定性が良好で、かつ凝集による二次粒子の形成やケーキングおよびpH低下が抑制され再分散性および安定性に優れたジフルプレドナートの点眼用懸濁液剤が提供される。

【図面の簡単な説明】

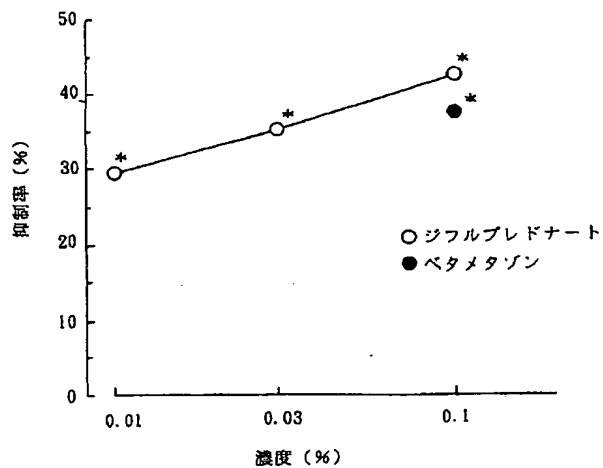
【図1】試験例2の結果を示すグラフである。各値は平均 \pm S.E.を示す($n=6\sim7$)。コントロールとの有意差 *; $p < 0.01$

【図2】試験例4の結果を示すグラフである。各値は平均を示す($n=10$)。コントロールとの有意差 *; $p < 0.01$

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	47/32		A 6 1 K 47/32	J
	47/38		47/38	H
				J
// C 0 7 J	5/00		C 0 7 J 5/00	

(72) 発明者 小河 貴裕
兵庫県西宮市愛宕山 8 番 23 号

(72) 発明者 寺井 正
兵庫県神戸市灘区天城通 3 丁目 11 番 17 号

CITED REFERENCE 6

Kokai (Jpn. Unexamined Patent Publication) No. 8-217678
Title of the Invention: Difluprednate-Containing Suspension
Preparation for Instillation
Publication Date: August 27, 1996
Patent Application No. 6-322513
Filing Date: December 26, 1994
Priority: Japanese Patent Application Nos. 5-332099
(December 27, 1993) and 6-307833 (December 12, 1994)

[0012]

In the suspension preparation of the present invention, an isotonicating agent can be blended so as to render the preparation to be isotonic with lachrymal fluid. Examples of the isotonicating agent which can be used include those commonly used in ophthalmic solutions, such as sodium chloride, glycerin, grape sugar, mannitol and sorbitol. Among these, sodium chloride is preferred, because by virtue of its good dispersibility at the preparation, a suspension preparation suppressed in the formation of an aggregate and favored with excellent redispersibility can be obtained. The isotonicating agent may be added in an amount of giving a suspension preparation having an osmotic pressure isotonic with lachrymal fluid.